med. 237

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. med. G. MALORNY)

Zur Frage der Verweildauer von Katecholaminen am Applikationsorte nach submuköser und intramuskulärer Injektion bei Kaninchen

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
der zahnmedizinischen Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität
Hamburg

vorgelegt von
WOLFGANG FISCHER
aus Celle — Deutschland

Hamburg 1962

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 20. 11. 1962.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Dekan: Professor Dr. Dr. R. Janzen

Referent: Professor Dr. K. Soehring

Korreferent: Prof. Dr. G. Malorny

E. C. Hermann Krüger (19. 1. 1898 — 7. 12. 1960)
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG 5

II. EXPERIMENTELLER TEIL

A. Methodenbeschreibung 9

B. Anatomie der Injektionsorte am Kaninchen 9

1. a) Mundvorhof

b) Harter Gaumen und Nasenhöhle

c) Mandibularloge

2. Oberschenkel des Hinterlaufs

C. Die Extraktion des Adrenalins und Noradrenalins nach SHORE und OLIN (1958) 18

D. Der chromatographische Nachweis 20

E. Die Homogenisierung der Gewebe 24

III. ERGEBNISSE

a) Befunde 29

b) Besprechung der Befunde 32

IV. ZUSAMMENFASSUNG 37

V. LITERATURVERZEICHNIS 38

Einleitung

Adrenalin und Noradrenalin spielen in der Praxis des Zahnarztes eine hervorragende Rolle bei der Lokalanalgesie. Dennoch wird das Schicksal dieser als Pharmazeutika benutzten Hormone im menschlichen und tierischen Organismus noch immer diskutiert. Deshalb rückten diese Katecholamine in den letzten Dezennien zunehmend in den Vordergrund pharmakologischen Interesses, wozu auch ihre Bedeutung für die Diagnose der Phäochromozytome beigetragen hat.

Nach Ansicht vieler Autoren scheint die Leber Adrenalin schnell zu zerstören (BATELLI, 1902; PAK, 1926), während andere (BACQ, 1937) annehmen, daß Leber und andere Abdominalorgane in vivo nicht mehr Adrenalin als andere Gewebe zerstören. BACQ (1937) stützte seine Anschauung u.a. darauf, daß z.B. eine Nephrektomie gleich wirkungsvoll in der Erhöhung des Effektes von injiziertem Adrenalin war, wie die Ausschaltung anderer Bauchorgane durch Anlegen von Ligaturen. Hiermit schloß er sich der Auffassung von MARKOWITZ und MANN (1929) an, die den Standpunkt vertraten, daß Adrenalin nicht durch ein besonderes Eingeweideorgan allein inaktiviert würde.

Als erste isolierten BLASCHKO, RICHTER und SCHLOSSMANN (1937) in der Rattenleber ein Ferment, das Adrenalin durch Oxydation inaktiviert. Diese Adrenalinoxydase fanden sie auch in Leber und Niere von Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen. In einer anderen Arbeit (1937) stellten die Verfasser fest, daß die

Adrenalinoxydase, die Tyraminoxydase und jenes Ferment, das die aliphatischen Amine oxydiert, wahrscheinlich ein Fermentsystem darstellen. Sie schlugen vor, dieses System *Aminoxydase* zu nennen.

Maßgebliche Untersuchungen zur Aufklärung des Schicksals von Adrenalin und Noradrenalin im Organismus des Kaninchens am intakten Tier und am isolierten Organ führte LUND (1951) durch. Er verfolgte die Eliminierung durch Abschätzen der Blutkonzentrationen. Als Nachweismethode bediente er sich der Fluorimetrie (LUND, 1950). Er konnte die Beobachtung von PEKKARINEN (1948) bestätigen, daß Adrenalin in Dosen von 100—200 Gamma pro kg Körpergewicht intravenös beim Kaninchen und Hund appliziert, innerhalb von 5—10 Minuten nicht mehr nachweisbar war. Er fand außerdem, daß bei Anwendung gleicher Mengen nach 3 Minuten noch 120 Gamma % Adrenalin im Blute nachweisbar waren, jedoch nur 35 Gamma % Noradrenalin. Dieses Ergebnis deckt sich mit der Beobachtung, daß die Blutdrucksteigerung nach Noradrenalin schneller als nach Adrenalin abfällt.

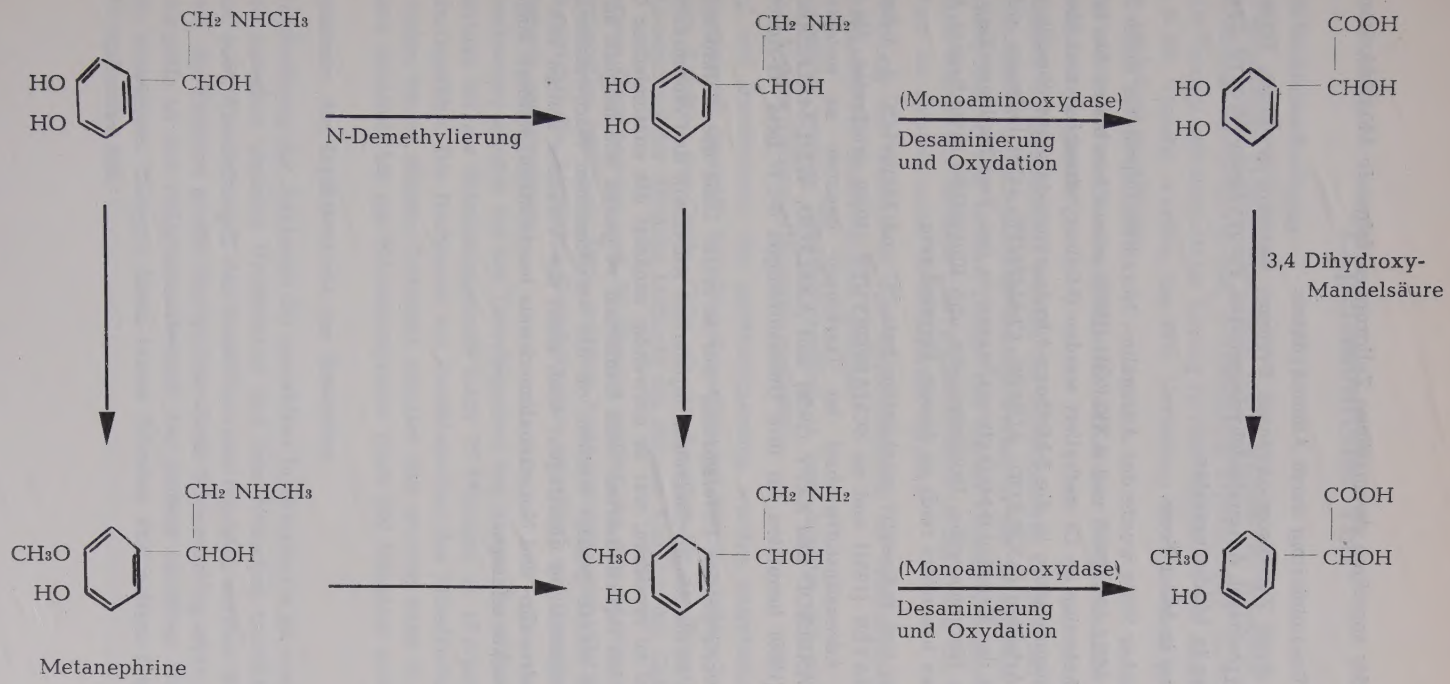
v. EULER (1956) weist darauf hin, daß beträchtliche Zeit nach der Injektion dieser Katecholamine noch größere Mengen in Organen nachgewiesen werden können, wenn sie im Blute schon nicht mehr auffindbar sind. LUND (1951) erklärte diese Erscheinung damit, daß Adrenalin und Noradrenalin durch Diffusion aus dem Blutkreislauf in das Gewebe übergehen sollen. Versuche mit Radioisotopen stützten seine Auffassung. Er bewies ferner, daß Adrenalin und Noradrenalin in der Leber durch Aminoxydasen gespalten werden. Im Muskel sollen sie durch das Zytochromoxydase System über Adrenochrom in Oxydationsprodukte überführt werden. WAJZER (1946) kam mit seinen Untersuchungen zu ähnlichen Ergebnissen.

LUND (1951) führte seine Untersuchungen so durch, daß er die Katecholamine in die Vena jugularis injizierte und Blutproben der Arteria carotis entnahm. Die Elimination, die er bei seinen Versuchen feststellte, führte er nicht auf eine Zerstörung im Blut zurück, weil die Katecholamine im Blut und Plasma durch sehr stabile Gleichgewichtsbedingungen unverändert erhalten werden sollen.

Bei Durchströmungsversuchen, die LUND (1951) am isolierten Hinterlauf durchführte, wurden maximal 2—3 Gamma/kg/min Adrenalin und Noradrenalin zerstört. Die durchströmte Leber zerstört maximal bis 10 mg/kg/h Adrenalin oder Noradrenalin. Während der Durchströmung am isolierten Organ wurde ein Teil der Katecholamine zu Adrenochrom oxydiert, was durch die markante Färbung und nach Alkalizusatz durch Fluoreszenz nachgewiesen wurde. LUND ist der Auffassung, daß diese Beobachtungen genügen, um das schnelle Verschwinden von Adrenalin und Noradrenalin nach Injektion in den intakten Körper zu erklären.

Dagegen stellte PAK (1926) fest, daß unter den von ihm eingehaltenen physiologischen Versuchsbedingungen kein erkennbarer Abbau von Adrenalin in der Muskulatur des Warmblüters und kein Durchdringen der Muskelgefäße nachzuweisen war.

v. EULER (1956) stellte als wesentlich für die Inaktivierung von Adrenalin und Noradrenalin nach Freigabe aus adrenergischen Nervenendigungen, vom Neben-



Metanephrine

Nach WILLIAMS (1959)

nierenmark oder sonstigen chromaffinen Zellgruppen folgende Möglichkeiten heraus:

1. Oxydative Desaminierung durch Aminoxydasen.
2. Oxydation durch Zytochrom-oxydasen Systeme, Katechol-oxydasen, Dopa-oxydasen (=Tyrosinase), Adrenalindehydrogenasen, Peroxydasen-Peroxyd Systeme.
3. Umwandlung in Milchsäureester.
4. Ausscheidung in freier Form.

Von biochemischer Seite wurde das Adrenalin-, Noradrenalinproblem durch ARMSTRONG, Mc MILLAN (1957) und AXELROD (1957) erneut bearbeitet. Sie fanden, daß die Katecholamine an C_3 methyliert werden (Methoxyadrenalin) und über die 3,4-Dihydroxymandelsäure in die 3-Methoxy-4-hydroxymandelsäure überführt werden. Spätere Arbeiten (AXELROD, ALBERS, CLEMENTE, 1959) befassen sich mit dem Nachweis der Katechol-0-Methyltransferasen in den verschiedenen Geweben. Besonders das Nervengewebe, Drüsengewebe und Blutgefäße erwachsener Macacus-Affen sollen besonders reich an diesem Ferment sein.

Die Einführung von radioaktiv markiertem beta-^{14}C und Methyl-^{14}C d-, l-Adrenalin durch SCHAYER (1951) und de SCHAEPDRYVER (1959) eröffneten die Möglichkeit, den Adrenalinstoffwechsel im Tierkörper genauer zu untersuchen. LA BROSSE, AXELROD und KETY (1958) und AXELROD, WEIL-MALHERBE und TOMCHICK (1959) benutzten für ihre Untersuchungen d-, l- beta ^3H-Adrenalinbitartrat.

Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war in erster Linie die Aufklärung des Verbleibs von in die Mundschleimhaut injiziertem Adrenalin und Noradrenalin.

Um dieses Ziel zu erreichen, war es notwendg, zunächst die anatomischen Gegebenheiten an den Injektionsorten beim Kaninchen so genau wie möglich zu definieren. Weiter mußte geklärt werden, ob die verschiedenen Nachweismethoden auf unsere Fragestellung übertragbar sind, denn die Versuche sollten sich nicht nur auf den Adrenalin- und Noradrenalinnachweis beschränken, sondern auch Umwandlungsprodukte erfassen.

Experimenteller Teil

A. Methodenbeschreibung

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Ihnen wurden pro Injektion 100 Gamma l-Suprarenin®-Hydrochlorid und d-Arterenol®-Hydrochlorid in schwach saurer, jeweils frischer selbstbereiteter Lösung (1:1000) appliziert, die mit Pontamine Sky Blue 6 BX versetzt wurden, um ihre Verteilung in den Geweben annäherungsweise verfolgen zu können.

In Vorversuchen wurde ausgeschlossen, daß dieser Farbstoffzusatz die Versuchsergebnisse beeinflußte.

Für unsere Untersuchungen wurden die Injektionsorte so gewählt, daß sie denen des Zahnarztes beim Menschen ähnlich waren. In der Mundhöhle wurde in die Umschlagfalte, in das hintere Drittel des harten Gaumens senkrecht zur Raphe mediana und in das Spatium pterygomandibulare in der Nähe des Foramen mandibulare am aufsteigenden Unterkieferast injiziert.

Zur Prüfung des Verhaltens von Katecholaminen im Muskelgewebe wurde die Muskelmasse des Oberschenkels gewählt.

Zur Injektion wurden Tuberkulinspritzen (1 ccm) benutzt, die eine genaue Dosierung kleiner Flüssigkeitsmengen gestatten.

Länge und Durchmesser der Injektionskanülen wurden entsprechend dem Verwendungszweck gewählt. Für die submuköse und intramuskuläre Injektion erwiesen sich Kanülen der Größe 17/23 als zweckmäßig, für die Mandibularinjektion bei Anwendung der direkten Methode die dünnen Kanülen der Größe 17/42.

Die ersten Tiere wurden nach 30 Minuten getötet. An den Injektionsorten wurden Gewebsproben exzidiert, diese wurden homogenisiert, nach SHORE und OLIN (1958) wurden die injizierten Katecholamine extrahiert und anschließend chromatographisch nachgewiesen.

Die Nachweise wurden bei den Gewebsproben des harten Gaumens und der Mandibularloge bis zur Erfassungsgrenze (nach 75 Minuten) in 15 minütigen Abständen durchgeführt. Die Nachweise aus Gewebsproben des Mundvorhofes und Muskels liefen bis zu diesem Zeitpunkt parallel und wurden dann in 30 minütigem Abstand ebenfalls bis zur Erfassungsgrenze (nach 300 Minuten) weiterverfolgt.

B. Anatomie der Injektionsorte am Kaninchen

Die Beschreibung der Anatomie der gewählten Injektionsorte ist wegen der Unterschiede zwischen unserem Versuchstier und dem Menschen unerläßlich. Daneben müssen auch Abweichungen der Reaktionsweise beachtet werden. Kaninchen nehmen z.B. die Exzision großer Hautproben durch Scherenschlag ohne jede Reaktion hin. Eingriffe in den Innervationsbereich des größten sensiblen Hirnnerven, des Nervus trigeminus, dagegen lösen lautes Schreien und heftige Gegenwehr oder den Totstellreflex aus.

1. Nach KRAUSE (1921) ist die Mundhöhle des Kaninchens ein etwa 60—70 mm langer Hohlraum. Er hat die Gestalt eines liegenden Kegels mit seitlich komprimierten Wandungen. Die Seitenwände der Mundhöhle werden von den Backen gebildet. Sie gehen rostralwärts in die Lippen über. Die Unterlippe umzieht den Unterkieferrand kontinuierlich. Die Oberlippe zeigt in der Mitte einen senkrechten Spalt, die sog. Hasenscharte. Die behaarte Haut der Lippen schlägt sich auf den freien Lippenrand über und wird erst an der inneren Lippenkante von Mundhöhlenschleimhaut ersetzt. An den Mundwinkeln setzt sich die behaarte Haut in die Mundhöhle fort und imponiert als langer Streifen an der Backeninnenfläche. Das Vestibulum oris bildet einen nach innen abgeschlossenen Spaltraum, der zwischen den Lippeninnenflächen, dem freien Kieferrand und den Zähnen liegt.

a) Die Schleimhaut des Vestibulums am Oberkiefer und Unterkiefer wurde als erster Injektionsort gewählt. Sie besteht aus einem hochgeschichteten Plattenepithel, das von einer starken bindegewebigen Tunica propria unterlagert wird, die sich von der folgenden Tunica submucosa nirgends scharf abgrenzen läßt.

Im Verlauf der Lippen und ganz besonders in dem Zipfel behaarter Haut, der sich vom Mundwinkel aus in die Mundhöhle erstreckt, findet man starke Schweißdrüsenmassen. Ferner liegen in der Gegend der Mundöffnung voluminöse umkapselte Drüsen, die KRAUSE (1921) zu den Schweißdrüsen rechnet. Sie liegen vorzüglich im Unterkiefer unmittelbar unter der Haut nach außen vom M. depressor labii inferior. Es sind ungefähr 10 cm lange, platte, bräunliche Drüsen, deren Ausführungsgänge rostralwärts in die Haut der Lippen münden.

Die Kaninchen besitzen ferner im Gegensatz zum Menschen auf jeder Seite sechs Speicheldrüsen. Es sind die Gll. submandibularis, sublingualis, parotis, infraorbitalis, buccalis inferior und buccalis superior.

In unserem Zusammenhang sind nur die Gll. buccales superiores et inferiores interessant.

Die *Gl. buccalis inferior* ist eine 12—15 mm lange Drüse. Sie liegt zwischen der Wangenschleimhaut und dem M. massetericus, rostral von den Backenzähnen auf der Pars incisiva des Unterkieferkörpers.

Die *Gll. buccales superiores* bestehen aus mehreren kleinen Drüsenläppchen, die zwischen dem M. buccinatorius und der Wangenschleimhaut liegen. Sie öffnen sich mit mehreren kurzen Ausführungsgängen in die Mundhöhle.

Allein die Unterzungendrüse und die Wangendrüsen gelten nach KRAUSE (1921) im Gegensatz zu den anderen Speicheldrüsen als reine Schleimdrüsen.

b) Der harte Gaumen des Kaninchens bildet die rostrale Hälfte des Mundhöhlendaches und die ventrale Begrenzung der Nasenhöhle. *Dem harten Gaumen beim Menschen ist nur sein kaudales Drittel vergleichbar.* Es ist nur sehr kurz und besitzt als knöcherne Grundlage eine vom Processus palatinus des Os maxillare und der Pars horizontalis des Os palatinum gebildete Knochenbrücke. Rostral und kau-

dal läuft er in die Spina nasalis anterior und posterior aus. Im vorderen Drittel liegt das durch eine straffe Membran verschlossene Foramen incisivum.

Der Gaumen wird von einer starken Schleimhautdecke überzogen, deren Plattenepithel in den obersten Schichten verhornt ist. Im Bereich des harten Gaumens finden sich 15—16 Querfalten, deren letzte dem kaudalen Rand des knöchernen Gaumens entspricht. Anschließend folgt die Schleimhaut des weichen Gaumens, deren Oberfläche vollkommen glatt und faltenlos ist.

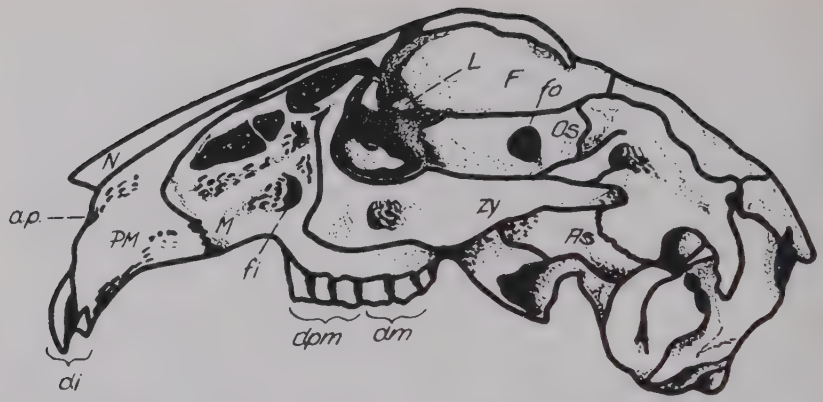
Die Nasenhöhlen werden lateral zum größten Teil vom Oberkiefer knöchern begrenzt, der hier einen stark spongiösen Bau aufweist. Dorsal schließt sich an den Oberkiefer der Processus frontalis des Intermaxillare an.

Die vordere Muschel, das Maxilloturbinale, steht mit dem Oberkiefer in Verbindung. Sie besteht aus einer Lamina sagittalis, der fünf hauchdünne Knochenlamellen aufsitzen. Ihre Ränder ragen frei in die Nasenhöhle hinein und sind ihrerseits in zahlreiche Sekundärlamellen gespalten. Auf das Os nasale folgt kaudal das Os frontale, dessen rostraler bogiger Rand die Apertura piriformis dorsal und lateral begrenzt. Ventralwärts liegt dem Nasale eine taschenförmige Knochenblase auf, die sich nach kaudal öffnet. Es ist das Nasoturbinale oder Masurpium nasi.

Die Nasenhöhle wird kaudalwärts in ihrer dorsalen Partie durch das Ethmoid abgeschlossen, von dessen rostralem Abschnitt die mediane, senkrechte Lamina perpendicularis ausgeht. Lateral stößt an die Lamina perpendicularis das Siebbeinlabyrinth. Es verlängert sich rostralwärts in die hinteren Muscheln, das Ethmoturbinale. Sie bestehen aus drei dünnen, gekrümmten Knochenlamellen, die frei in die Nasenhöhle hineinragen. Dorsal sind sie mit dem Nasoturbinale verbunden.

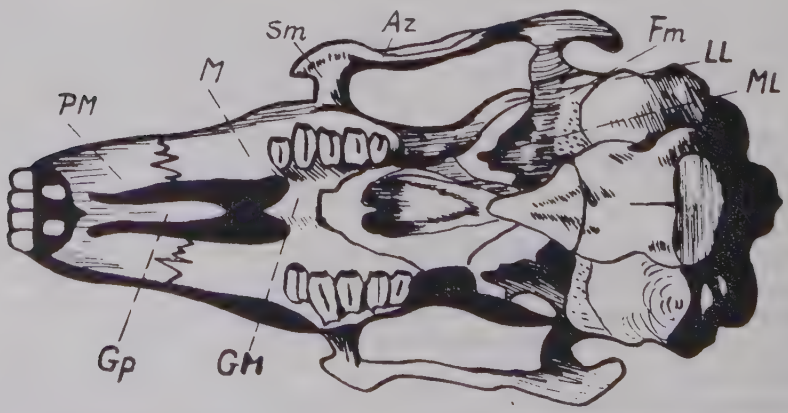
Beide Nasenhöhlen werden durch das Septum nasi getrennt. Im Längsschnitt haben sie die Form eines langgezogenen Vierecks. Die mediane Wand ist glatt, die Unterlage knorpelig und nur in ihrem kaudalen Abschnitt verknöchert. Die laterale Wand ist uneben. Sie steigt schräg dorsalwärts an, wodurch sich die Nasenhöhle von ventral nach dorsal beträchtlich erweitert. Das Septum nasi legt sich der Ventralfläche der Nasalia an und geht kaudal in die Lamina perpendicularis des Ethmoid und den Vomer über. Rostralwärts folgt das von äußerer Haut gebildete Septum mobile. Am ventralen Rand des Septums liegt in der rostralen Hälfte jederseits der Cartilago Jakobsonii. Er stellt eine Knorpelrinne dar und ist nach dorsolateral geöffnet. Die Pars medialis des Intermaxillare umfaßt sie von ventral. Zwischen ihr und der Pars lateralis bzw. zwischen der Pars medialis und dem Körper des Maxillare liegt das Foramen incisivum, ein von der Mundhöhle in die Nasenhöhle führender Spalt.

Am Schleimhautpräparat erhebt sich in der rostralen Hälfte der Lateralwand der Nasenhöhle die vordere Muschel mit ihren Blättern, das Maxilloturbinale. Sie fließt kaudal zu einem Längswulst zusammen, der zum Choanenboden hinleitet. Im dorsokaudalen Bereich der Lateralwand liegt die hintere Munschel, das Ethmoturbinale. Sie besteht aus vier Riechwülsten, welche ventral von einer Schleimhautfalte umrahmt werden, die wiederum zum Choanendach überleitet. Medial verbindet sie sich mit dem Septum nasi.

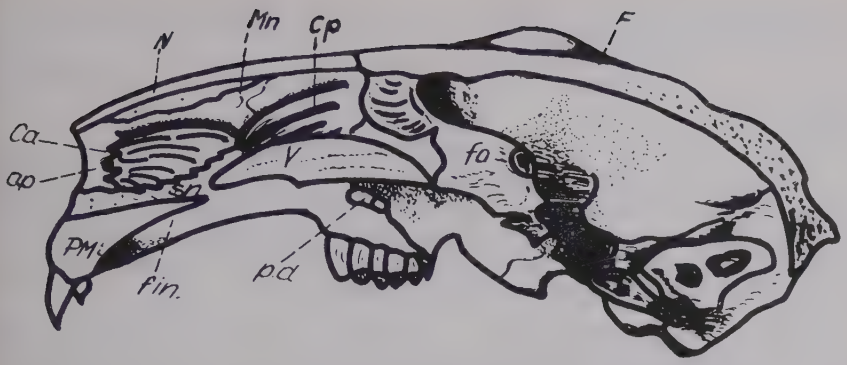


Kaninchenschädel in seitlicher Ansicht *Nach BENSLEY (1948)*

1. ap = Apertura piriformis
2. As = Alisphenoid (ala magna)
3. Az = Arcus zygomaticus
4. di = Dentes incisivi
5. dm = Dentes molarii
6. dpm = Dentes praemolarii
7. F = Os frontale
8. fi = Foramen infraorbitale
9. Fm = Fossa mandibularis
10. fo = Foramen opticum
11. GM = Gaumenfortsatz d. Maxilla
12. GP = Gaumenfortsatz der Praemaxilla
13. L = Os lacrimale
14. M = Maxilla
15. ML u. LL = Mediale und laterale Lamelle des Processus pterygoideus
16. N = Nasale
17. Os = Orbitosphenoid (ala parva)
18. PM = Praemaxilla
19. Sm = Spina masseterica
20. Zy = Os zygomaticum

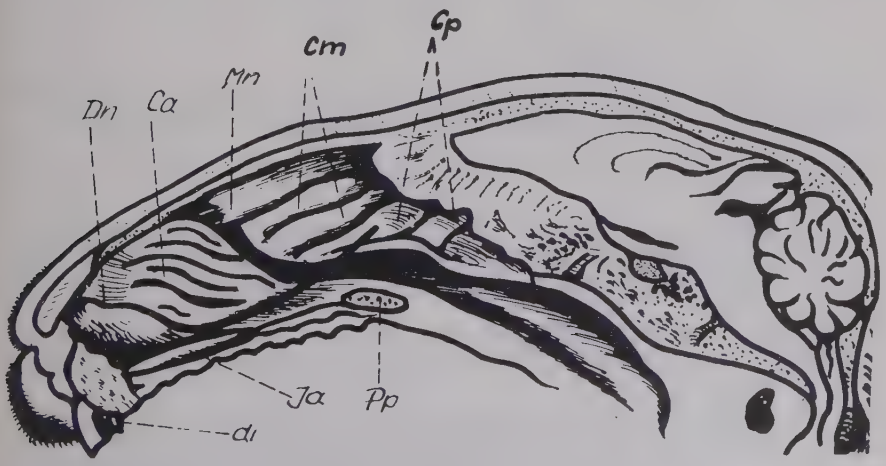


Kaninchenschädel von unten. *Nach GERHARDT (1909)*



Medianschnitt durch einen Kaninchenschädel. Nach BENSLEY (1948)

1. ap = Apertura piriformis
2. Ca = Concha anterior (Maxilloturbinale)
3. Cm = Concha media
4. Cp = Concha posterior (Ethmoturbinale)
5. di = Dentes incisivi
6. Dn = Ductus nasolacrimalis schraffiert = v. Knochen bedeckt dunkel = von Schleimhaut bedeckt
7. F = Os frontale
8. f.in = Foramen incisivum
9. fo = Foramen opticum
10. Ja = Jacobsonsches Organ
11. M = Maxilla
12. Mn = Masurpium nasi
13. N = Nasale
14. PM = Praemaxillare
15. pd = Palatum durum
16. Pp = Processus palatinus des Oberkiefers
17. sn = Septum nasale
18. V = Vomer



Medianschnitt durch einen Kaninchenkopf. Nach GERHARDT (1909)

Die mittlere Muschel ragt aus einer tiefen Grube hervor, die sich rostral und dorsal vom ersten Riechwulst öffnet.

Zwischen vordere und hintere Muschel schiebt sich ein langgezogener Schleimhautwulst, das Masurpium.

c) Die Mandibularloge weist für unseren Zusammenhang keine Besonderheiten auf. An der Innenseite des aufsteigenden Astes findet sich das Foramen mandibulae als Eingang in den Canalis mandibulae. Er wird überragt durch eine zierliche Lingula mandibulae, die sich wegen der langausgezogenen Mundhöhle nur unter großen Schwierigkeiten ertasten läßt. Die Schleimhaut in dem zur Injektion vorgesehenen Bereich ist mächtig, sehr locker und gut vaskularisiert.

2. Die Muskulatur des Kaninchens weist die eigenartige Erscheinung auf, daß nahe beieinanderliegende Muskelgruppen mehr oder weniger regelmäßige Färbungsunterschiede zeigen.

Die blassen, weichen, sog. „weißen" Muskeln sind weit häufiger, als die derberen „roten". Diese weisen dickere Fasern auf mit zahlreicheren Kernen, sie sind bedeutend stärker mit Gefäßen versorgt und sind durch elektrischen Strom leichter reizbar.

KRAUSE (1921) weist darauf hin, daß bei einzelnen Kaninchen mit einiger Inkonstanz manche Muskeln „rot" und „weiß" sein können. Andere Muskeln, wie der M. semitendinosus, sind regelmäßig „rot".

Als Injektionsort wurden die Muskeln des Oberschenkels am Hinterlauf gewählt. Sie lassen sich am übersichtlichsten einteilen in solche der Streckseite, der Beugeseite und der Adduktorenseite.

Die folgende Darlegung lehnt sich weitgehend den Ausführungen GERHARDT's (1909) an.

a) Die Muskeln der Streckseite

Fast die gesamte orale Fläche des Femur wird von einer gewaltigen Muskelmasse eingenommen. Es ist der M. extensor quadriceps. Seine vier Köpfe sind:

1. Der M. rectus femoris. Dieser besteht seinerseits aus zwei Köpfen, die in ihrer Endsehne vereinigt sind.

Das Caput longum entspringt vom ventralen Darmbeinende bis zur Gegend der Hüftgelenkspfanne. Der Muskel ist außerordentlich breit und kräftig. Die Hauptmasse der Fasern verläuft in der Längsrichtung der Extremität.

Das Caput breve entspringt ebenfalls oral von der Gelenkspfanne. Der Muskel wird eingeschlossen von beiden Mm. vasti. Seine Endsehne vereinigt sich mit der des Caput longum.

2. Der M. vastus lateralis entspringt vom Schenkelhals, dem Trochanter major, und dem Ligamentum intermuskulare laterale. Die Insertion vereinigt sich mit der der übrigen Streckmuskeln zur gemeinsamen Endsehne des Unterschenkels.

3. Der M. vastus medialis entspringt von der Basis des Oberschenkelhalses, von dem proximalen Drittel der Femurdiaphyse, sowie von einem Teil der Faszia lata. Der nicht sehr stark entwickelte Muskel entsendet seine dünne Endsehne zur gemeinsamen großen Extensorenendsehne.

4. Der M. femoralis setzt sich wieder aus zwei deutlich getrennten Portionen zusammen.

Die eine Portion entspringt von der oralen und der lateralen Fläche des Trochanter major und vom Schenkelhals.

Die zweite Portion entspringt z. T. gleichfalls vom Trochanter major, zum größten Teil jedoch von der gesamten oralen Femurfläche und dem Ligamentum intermuskulare laterale.

Die gemeinsame Endsehne dieser Muskelgruppen enthält in ihrer Substanz eingelagert die Patella. Als Insertionsstelle gilt die Tuberositas tibiae.

b) Die Muskeln der Beugeseite

1. Der bedeutendste Beugemuskel des Unterschenkels ist der M. biceps femoris. Der eigentliche M. biceps femoris entspringt mit seinem ersten Kopf von den Processi spinosi spurii des zweiten bis vierten Sakralwirbels. Er besitzt eine breite Ursprungsaponeurose.

Sein Insertionsgebiet ist sehr ausgedehnt und erstreckt sich von der lateralen Fläche der Patella bis zum distalen Drittel der Tibia und zur Faszia cruris.

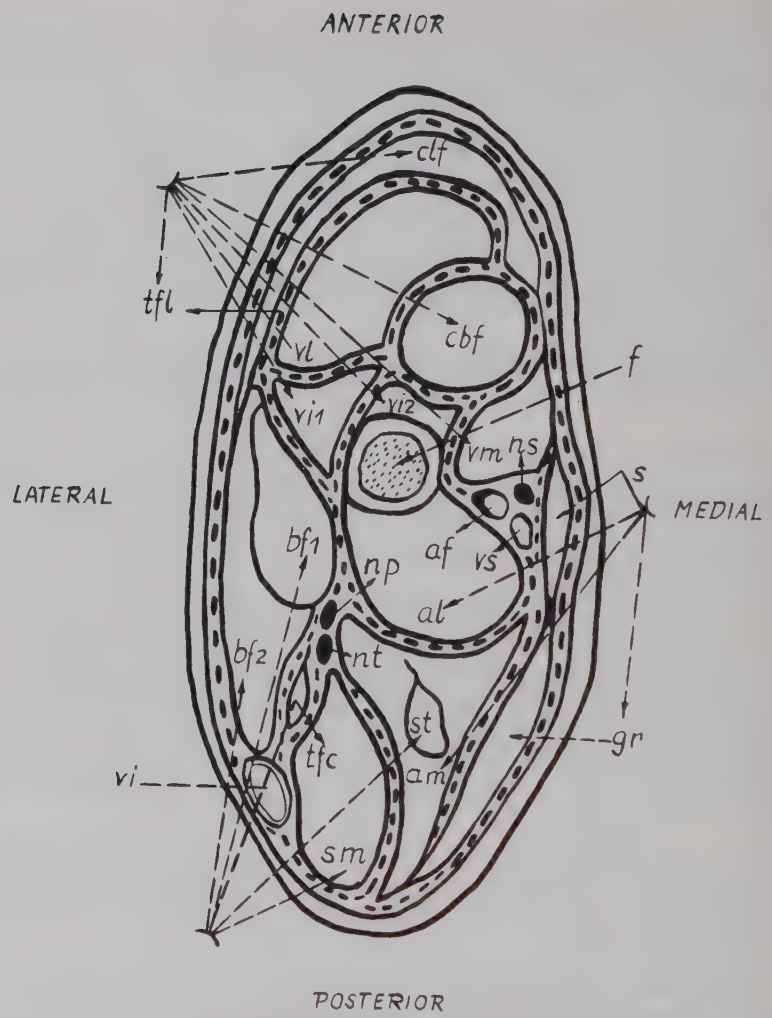
Der zweite Kopf ist an seinem Ursprung mit dem M. semimembranosus verwachsen und entspringt mit ihm am Tuber ischii. Er inseriert zwischen erstem und drittem Kopf an der Lateralfläche des Unterschenkels. Der dritte Kopf entspringt vom Prozessus lateralis des Tuber ischii mit langer Ursprungssehne. Er ist vom zweiten Kopf bedeckt, mit dem er vereinigt als starker, breiter Muskel zur Lateralfläche des Unterschenkels und auch zu dessen Faszie zieht.

Der gesamte M. biceps femoris stellt eine kompakte Muskelmasse dar, die die Hinterextremität des Kaninchens in der ihr in der Ruhelage eigenen, halbgebeugten Stellung erhält. Die Wirkung der Beugemuskeln überwiegt damit im Vergleich zu der der Strecker.

2. Der M. semimembranosus entspringt, wie der dritte Kopf des Biceps femoris, vom Prozessus lateralis des Tuber ischii und außerdem von einer oberflächlich gelegenen Ursprungsaponeurose, die mit der Faszie des ersten Kopfes des Biceps femoris zusammenhängt. Der Muskel ist kräftig und breit, seine Richtung kaudal- und medianwärts.

Die Insertionssehne ist vereinigt mit der des M. gracilis an der Grenze zwischen medianem und distalem Drittel der Tibia an deren Medianseite.

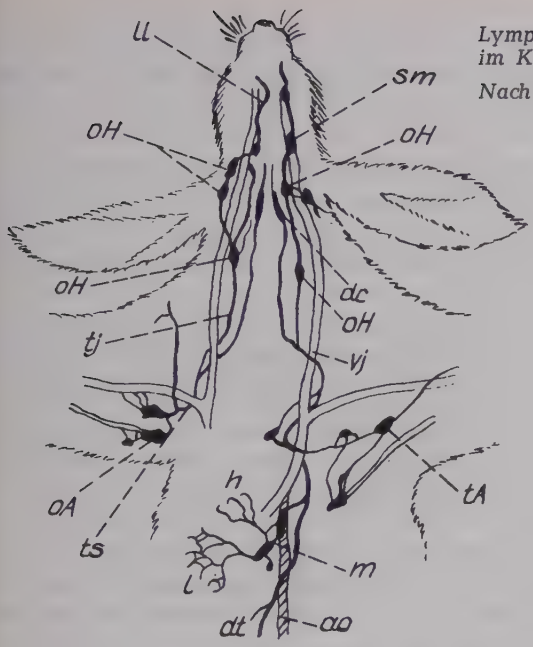
3. Der „rote" M. semitendinosus entspringt vom Tuber ischii und liegt völlig eingebettet in der Substanz des „weißen", weichen M. adductor magnus. Er inseriert mit langer Endsehne am Condylus medialis tibiae.



Lagebeziehungen der Muskelgruppen eines Hinterschenkels beim Kaninchen. (Querschnitt in Höhe der Mitte des Oberschenkels). Nach BENSLEY (1948)

Pfeile links oben
Die Muskeln der *Streckseite*
vl = M. vastus lateralis
tfl = M. tensor fasciae latae
clf = Caput longum des M. rectus femoris
cbf = Caput breve des M rectus femoris
vm = M. vastus medialis

(Fortsetzung auf der nächsten Seite)



Lymphknoten und Lymphbahnen im Kopf-Hals-Bereich
Nach BENSLEY (1948)

ao = Aorta
dt = Ductus thoracicus
h = Lymphgefäße des Herzens
l = Lymphgefäße der Lungen
ll = L., die von den Lippen kommen
m = L. des vorderen Mediastinums
oA = Oberflächliche Achsellymphkn.
oH = Oberflächliche Halslymphkn.
sm = Submandibuläre Lymphknoten
tA = Tiefe Achsellymphknoten
tj = Truncus jugularis
ts = Truncus subclavius
vj = Vena jugularis

(Fortsetzung von der vorigen Seite)

vi_1 = 1. Kopf des M. vastus intermedius
vi_2 = 2. Kopf des M. vastus intermedius

Pfeile links unten
Die Muskeln der *Beugeseite*

bf_1 = 1. Kopf des M. biceps femoris
bf_2 = 2. Kopf des M. biceps femoris
sm = M. semimembranosus
st = M. semitendinosus
tfc = M. tensor fasciae cruris

Pfeile rechts
Die Muskeln der *Adduktorenseite*

s = M. sartorius
al = M. adductor longus
am = M. adductor magnus
gr = M. gracilis
f = femur
vs = Vena saphena magna
ns = Nervus saphenus
af = Arteria femoralis
np = Nervus peronaeus
nt = Nervus tibialis
vi = Vena saphena accessoria (V. ischiadica)

c) Die Muskeln der Adduktorenseite

1. Der M. gracilis entspringt von der Schambeinsymphyse und zieht von ihr zur Medianfläche des proximalen Drittels der Tibia. Der Muskel ist lang, breit und abgeplattet.

2. Der M. sartorius entspringt kaudal vom Ligamentum inguinale aus der Faszie des M. obliquus abdominis externus. Er vereinigt sich mit dem M. gracilis spitzwinklig etwa in dessen Mitte.

3. Der M. pectineus entspringt vom Pecten ossis pubis. Seine Insertionsstelle liegt etwa distal vom Trochantor minor.

4. Der M. adductor brevis entspringt lateral vom vorigen Muskel, teilweise von ihm bedeckt, vom Os pubis. Er inseriert distal vom vorigen, mit dem er die Verlaufsrichtung teilt, den er an Länge übertrifft, dem er dagegen an Dicke nachsteht.

5. Der M. adductor longus liegt tiefer als der Brevis, zwischen ihm und dem Pectineus. Er entspringt am absteigenden Schambein- und aufsteigenden Sitzbeinast und von der kaudalen Partie der Symphyse. Er inseriert in einer längeren Linie an der Kaudalfläche des Femur. Dieser Muskel ist außerordentlich kräftig.

6. Der M. adductor magnus entspringt am Becken noch weiter kaudal und von der dorsalen Fläche des Tuber ischii. Er schließt sich eng an den Adductor longus an, reicht mit seinem Ende an die Medianfläche des Femur und inseriert dort im unteren Drittel des Knochens.

Die Lagebeziehungen dieser Muskeln zueinander demonstriert besser als viele Worte die nebenstehende Querschnittszeichnung aus dem Oberschenkel des Kaninchens.

Die äußeren Hüftmuskeln verdienen in unserem Zusammenhang keine Beachtung.

C. Die Extraktion des Adrenalins und Noradrenalins nach SHORE und OLIN (1958)

Methoden zur Extraktion von Adrenalin und Noradrenalin aus Körperflüssigkeiten liegen in größerer Zahl vor. Als wesentlichste sind für die Extraktion aus *Blut* zu nennen:

v. EULER und SCHMITERLÖW, 1947
WEIL-MALHERBE und BONE, 1952
CRAWFORD und OUTSCHOORN, 1951,

für die Extraktion aus *Urin:*

v. EULER und ORWEN, 1955
BERG, 1960.

Im Gegensatz hierzu sind Angaben über die Extraktion dieser Katecholamine aus dem *Körpergewebe* seltener. Als bedeutsamer Fortschritt erschien die Arbeit von SHORE und OLIN (1958). Sie gehen wie folgt vor.

Prinzip: Eine Gewebsprobe wird mit 0,01 n-HCl homogenisiert. Aus diesem Homogenisat werden die Katecholamine in die alkoholische Phase n-Butanol extrahiert

und von ihr über Heptan in 0,01 n-HCl überführt; diese Phase wird zum spektrographischen Nachweis benutzt.

Ausführung: n-Butanol und n-Heptan werden nacheinander mit gleichen Volumina n-NaOH, n-HCl und dreimal mit aqua destillata gewaschen. Nach dem Waschen soll der pH-Wert des Butanol über 3 liegen. Für n-Heptan genügt ein zweimaliges Waschen mit aqua destillata.

Das zur Untersuchung vorgesehene Gewebe wird nun mit dem gleichen Volumen 0,01 n-HCl versetzt und in einem durch Motorkraft betriebenen Glashomogenisator aufbereitet. 6 ml dieses Homogenisats werden in einem 125 ml fassenden Erlenmeyerkolben überführt und mit 7—8 g NaCl und 60 ml n-Butanol versetzt. Dieses Gemisch wird eine Stunde lang geschüttelt. Durch die Sättigung der wäßrigen Phase mit NaCl soll die Extraktion der Katecholamine in das Butanol erleichtert werden. Anschließend wird zentrifugiert, und 40 ml Butanol werden in einen Schütteltrichter überführt. Ihm werden 5 ml einer 0,01 n-HCl und 70 ml Heptan zugesetzt. Der Trichter wird 5 Minuten lang geschüttelt und die sich absetzende wäßrige Phase gesammelt. Die Löslichkeit der Substanzen im Butanol wird durch das Hinzufügen von Heptan verringert. Dadurch werden bei diesem Arbeitsgang die Katecholamine in die wäßrige Phase zurücküberführt. SHORE und OLIN oxydieren nun die Katecholamine zu den stark fluoreszierenden Trihydroxyindolen und schätzen sie fluorimetrisch.

Die beiden Autoren geben an, daß sie in der Lage waren, durch dieses Verfahren ca. 65 % der in den untersuchten Geweben enthaltenen Katecholamine zu extrahieren. Eine besondere Überprüfung des pH-Wertes erwies sich ihnen als überflüssig. Der pH-Wert des Homogenisats konnte unbedenklich zwischen 2,5 und 5,5 liegen.

Das von SHORE/OLIN angegebene Verfahren wurde im Verlauf der Versuche in folgenden Punkten modifiziert:

a) Statt der spektrographischen Messung wurde eine verbesserte Form der chromatographischen Schätzmethode eingeführt. Eine Durchsicht der Literatur ergab, daß fluorimetrische Methoden allgemein vorgezogen werden, weil sie eine objektive Messung an der Endstufe ermöglichen.

Bei einwandfreier Technik lassen sich heute mit der Papierchromatographie sowohl kleinste Mengen eines Stoffes nachweisen als auch kleinste Mengen einander sehr ähnlicher Stoffe voneinander trennen. Weil vor Versuchsbeginn nicht feststand, was mit den Katecholaminen im Gewebe geschehen würde, wurde versucht, auch evtl. Umwandlungsprodukte zu erfassen. Aufschlüsse in dieser Hinsicht bergen die Möglichkeit in sich, Wirkungscharakter und Wirkungsintensität zu deuten, denn sie hängen schließlich von der Art und der Geschwindigkeit der biochemischen Umsetzungen ab, die ein zu untersuchender Stoff im Gewebe erfährt. Zur Erforschung dieser Möglichkeiten schien das recht einfache und in methodischer wie apparativer Hinsicht wenig anspruchsvolle Verfahren der Papierchromatographie ideale Voraussetzungen zu bieten.

Als erschwerend kam hinzu, daß trotz größter Sorgfalt beim Arbeiten und trotz mehrfachen Zentrifugierens der Extrakt oftmals eine leichte Trübung durch feinste Gewebsrückstände und Blutreste aufwies und auch der Farbstoff, mit dem die Verteilung der injizierten Katecholamine im Gewebe studiert werden sollte, zu Störungen hätte führen können.

Ein trüber und durch Farbstoffe verunreinigter Extrakt dämpft die Intensität der Fluoreszenz im Photometer daduch, daß der einfallende Lichtstrahl gestreut wird (UDENFRIEND, 1959). Es wäre unter Umständen möglich gewesen, diese Partikel durch Filter einzufangen. Bei über 200 Versuchen jedoch und den sehr guten Erfahrungen mit der außerordentlich empfindlichen Papierchromatographie, schien ihre Anwendung bei unseren Untersuchungen gerechtfertigt zu sein.

b) Um den SHORE/OLIN'schen Extraktionsgang der Papierchromatographie anzupassen, galt es, die Konzentration der Katecholamine im Gewebsextrakt zu erhöhen. Es mußte vor allen Dingen die begrenzte Aufnahmefähigkeit des Papiers für Flüssigkeiten beachtet werden. Aus diesem Grunde wurde von allen Extraktionsflüssigkeiten nur je ein Viertel der Mengen benutzt, die SHORE/OLIN angaben.

D. Der chromatographische Nachweis

Erst seit 1951 liegt von CRAWFORD und OUTSCHOORN ein brauchbares papierchromatographisches Verfahren vor, mit dem Adrenalin und Noradrenalin voneinander getrennt werden können. Inzwischen wurde diese Methode von zahlreichen Autoren den unterschiedlichsten Arbeitsgängen angepaßt.

NATELSON (1949) verdanken wir die Äthylendiaminkondensation, durch die Adrenalin und Noradrenalin zu stark fluoreszierenden Verbindungen kondensiert werden. Diese Nachweisreaktion ist außerordentlich empfindlich. Sie ermöglicht die Darstellung von Gammabruchteilen der Katecholamine. Die Reaktion kommt allerdings nur zustande, wenn beide OH-Gruppen in Orthostellung am Chinonring vorhanden sind. Sie hat den großen Vorteil, daß geringfügige Ungenauigkeiten der Rf-Werte nicht schwer wiegen, weil Adrenalin sehr charakteristisch buttergelb fluoresziert und Noradrenalin grünlich-blau.

Bei unseren Untersuchungen wurde im aufsteigenden Verfahren chromatographiert. *Entsprechend 100 mg Gewebe* wurde mit einer Blutzuckerpipette Gewebsextrakt auf die Startlinie des Filtrierpapiers übertragen. Das derart vorbereitete Papier wurde mit der Startlinie nach unten in eine dicht abschließende Chromatographiewanne gehängt. Nach einer Klimatisationsdauer von ca. 5 Minuten, wurde es in das Fließmittel eingetaucht. Die mobile Phase des Fließmittels wird nach oben gesaugt und die zu untersuchende Substanz dabei mitgeführt. Ist eine Substanz stärker wasserlöslich, so wird sie sich mehr auf die einzelnen Papierkörnchen verteilen, ist sie stärker in der Lösung löslich, so wird sie von dieser in größerer Menge mitgeführt werden und schneller wandern. Es wurde über 16 Stunden chromatographiert. Die Streifen wurden nach der Entnahme aus der Chromato-

graphiewanne getrocknet und zur Ausbildung fluoreszierender Produkte mit einer 6 %igen Äthylendiaminlösung besprüht. Nach 20 Minuten Trocknung im Trockenschrank bei 50° C erfolgte die Auswertung unter UV-Licht bei einer Wellenlänge von 2540 AE.

Auf dem Chromatographiestreifen werden die zu untersuchenden Stoffe verschieden weit transportiert, entsprechend ihrer Verteilung zwischen stationärer und mobiler Phase. Dieser Vorgang kommt dadurch zustande, daß jedes einzelne Papierkörnchen in Art eines Schütteltrichters wirkt. Der zu untersuchende Stoff verteilt sich nach dem Verteilungssatz. Deshalb ist das Maß der Wanderungsgeschwindigkeit definiert als der Quotient aus der Strecke Startpunkt — Mitte Substanzfleck durch Strecke Startfleck — Lösungsmittelfront.

$$Rf = \frac{\text{Strecke Startpunkt bis Substanz x}}{\text{Strecke Startpunkt bis Lösungsmittelfront}}$$

Der Rf-Wert soll immer kleiner als 1 sein.

Um eine größtmögliche Genauigkeit zu erzielen, wurden in Vorversuchen Störungen der Papierchromatographie soweit als möglich ausgeschaltet und die Papierchromatographie dem Gewebsextraktionsverfahren angepaßt.

Dabei verdienten die Beziehungen von Extrakteigenschaft und Laufmittelsystem eine besondere Beachtung.

Die für die Trennung von Adrenalin und Noradrenalin angegebenen Komponenten von Laufmittelsystemen sind zumeist Alkohol, Säure und Wasser. Sie werden 60 Minuten lang geschüttelt, und es wird die Trennung in eine obere alkoholische und eine untere wäßrige Phase abgewartet. Die wäßrige Phase wird verworfen, die alkoholische als Laufmittel benutzt. Sie muß vor Gebrauch drei Tage lang bei der Temperatur „reifen", bei der chromatographiert werden soll (HAIS und MACEK, 1958).

1. Zunächst übertragen wir das Laufmittelsystem *n-Butanol - n-HCl = 1:1* aus der Harnchromatographie auf unsere Extrakte. Sehr bald war ersichtlich, daß bei diesem Laufmittel zu viel Adrenalin und Noradrenalin an der Auftragsstelle hängenblieben. Trotz vorbehandelter Papiere war der „Salzhof" so groß, daß eine Störung der Katecholaminflecke zu erwarten gewesen wäre.

2. Das von GOLDENBERG u.a. (1954) zu Trennung der Katecholamine eingeführte *Partridge-Gemisch, n-Butanol - Eisessig - Wasser = 4 - 1 - 5*, stellte für unsere Zwecke keinen Fortschritt dar. Bei diesem Fließmittel wurde die Unbrauchbarkeit dadurch erhöht, daß die Rf-Werte von Adrenalin und Noradrenalin sehr dicht beieinander lagen. Mitunter berührten sie sich sogar. Ein Ineinanderfließen war durch saubere Arbeitstechnik auszuschließen.

3. Der optimale Wassergehalt des Laufmittels ist für eine gute Trennfähigkeit von Bedeutung. Das Butanol nimmt mehr Wasser auf, wenn der Grad und das Volumen der zugesetzten Säure erhöht werden. Deswegen zogen wir einige Zeit lang

ein Lösungsmittelgemisch aus *n-Butanol - Eisessig - Wasser = 4 - 5 - 1* für unsere Untersuchungen heran. Das Wasser wurde von dem Lösungsmittelgemisch völlig aufgenommen, eine Vorbehandlung der Papierstreifen erwies sich als überflüssig. Die Trennung von Adrenalin und Noradrenalin war hervorragend. Doch stellte sich heraus, daß die Flecke zwar zur Lösungsmittelfront hin scharf begrenzt waren, zur Startlinie aber oftmals einen langen, diffusen Schwanz zeigten. Diese Erscheinung wäre bei großen Mengen an Katecholaminen möglicherweise zu vernachlässigen gewesen. Für den erstrebten Nachweis von Gammabruchteilen, hatte das Lösungsmittel als unbrauchbar zu gelten.

4. Demzufolge kehrten wir schließlich zu einem Lösungsmittelsystem mit den Komponenten *n-Butanol - 2n - HCl = 1:1* zurück und arbeiteten wiederum mit 0,75 % NaCl gepuffertem Papier. Dieses Laufmittelsystem wurde allen vorgenannten gegenüber vorgezogen, weil es Adrenalin und Noradrenalin von der Auftragsstelle vollkommen löste, ein „Salzhof" kaum festzustellen war und die Trennung der Katecholamine ausgezeichnet darstellte. Mit ihm wären darüberhinaus sämtliche Abbauprodukte zu erfassen gewesen, soweit sie von Harnchromatogrammen bekannt sind.

Um u.U. eine Umwandlung von Adrenalin in Noradrenalin zu erfassen, wurde bei der Auswahl des Laufmittels ganz besonderer Wert darauf gelegt, daß Adrenalin und Noradrenalin eindeutig durch Lage und Farbe charakterisiert wurden. Die Gefahr von Fehlschlüssen ist groß, weil die Rf-Werte von Adrenalin und Noradrenalin niedrig sind — nur das Laufmittel 3 ist davon ausgenommen —, die Flecken unmittelbar untereinander gefunden werden und bei Harnchromatogrammen außerdem in enger Nachbarschaft ein scharf ausgeprägter „Abbaufleck" von nur wenig größerem Rf-Wert liegt.

Eine kurze Zusammenstellung der Rf-Werte bei verschiedenen Laufmittelsystemen soll die Übersicht erleichtern.

1. n-Butanol - n-HCl = 1:1
   Adrenalin = 0,18
   Noradrenalin = 0,13
   Oxydationsprodukt = 0,77

2. n-Butanol 4, Eisessig 1,
   Wasser 5
   (Partridge-Gemisch)
   Adrenalin = 0,21
   Noradrenalin = 0,18
   Oxydationsprodukt = 0,77

3. n-Butanol 4, Eisessig 5,
   Wasser 1
   Adrenalin = 0,37
   Noradrenalin = 0,27
   Oxydationsprodukt = 0,92

4. n-Butanol - 2n-HCl = 1:1
   Adrenalin = 0,20
   Noradrenalin = 0,13

Wenn man bedenkt, daß die Rf-Werte wesentlich durch die Beziehungen zwischen Wahl und Behandlung des Papiers, der Temperatur, zwischen der Substanz und dem Lösungsmittel und der Dosierung der Probe zu verstehen sind, wird erklär-

lich, daß schon eine kleine Änderung dieser Faktoren die Rf-Werte beträchtlich verändern kann. Deshalb weisen sie bei jeder Substanz eine gewisse Streuung auf.

Als *Papier* benutzten wir das langsam laufende Schleicher & Schüll-Papier, Nr. 2043 b (matt) längs zur Faserrichtung in Form 40 cm langer und 14 cm breiter Streifen für je vier Extraktaufträge. Eine Verbesserung der Trennung wird in vielen Fällen durch Vorbehandlung des Papiers mit Salzlösungen erreicht, wenn diese das im System vorhandene Säureanion enthalten (HAIS und MACEK, 1958). Die Streifen werden einmal durch eine 0,75 %ige Kochsalzlösung gezogen und vor dem Auftragen getrocknet. Die Trennung war gut, und der „Salzhof" kleiner als bei unbehandeltem Papier. Als „Salzhof" verstehen wir einen Fleck, der am Auftragspunkt liegt und in Fließrichtung des Laufmittels exzentrisch verzogen wird. Wegen der niedrigen Rf-Werte von Noradrenalin und Adrenalin kann er zu Störungen führen.

Eine regelmäßige *Temperatur* konnte aus technischen Gründen nicht eingehalten werden. Die Raumtemperatur lag durchschnittlich um 20° C.

Starke Beachtung verdient die Tatsache, daß die Rf-Werte bei zunehmender *Veresterung des Lösungsmittels* kleiner werden. Die Tendenz zur Verkleinerung der Rf-Werte ist ein deutliches Anzeichen dafür, daß das Lösungsmittel neu zubereitet werden muß (HAIS und MACEK, 1958).

Weitere Störungen der Rf-Werte können auftreten durch Konzentrationsunterschiede, Fremdionen und Verunreinigungen des Lösungsmittels. Manchmal war zu beobachten, daß die zu trennenden Substanzen an andere Komponenten des Gemisches adsorbiert wurden, welche am Start liegen blieben. Bei unseren Gewebsextrakten darf eine Adsorption an Eiweiß unterstellt werden. HAIS und MACEK (1958) nennen noch Salze, Lipoide, Kohlenhydrate und Harnstoff als Substanzen, die in dieser Art störend wirken können.

Eine evtl. *Trübung des Extraktes* durch Gewebsreste hatte keinen Einfluß auf die Fleckenintensität und Qualität der Chromatogramme.

Der *Farbstoff*, der zum Anfärben der injizierten Adrenalin- und Noradrenalinlösungen diente, wanderte kaum merklich mit. Er blieb nur wenige Millimeter über dem Auftragspunkt liegen und störte die Trennung der Substanzen nicht. Ähnlich verhielten sich Gewebsrückstände und Blutreste.

Die obere Begrenzung der Flecken ist oftmals problematisch. Deshalb sind sämtliche Rf-Werte nur bedingt verwertbar. Die Nachweise sind als gültig zu betrachten, wenn *Leitchromatogramme* als Hilfmittel zur Identifizierung und Abschätzung der Substanzen angefertigt werden. Durch den Extraktionsgang geschieht es oft, daß die Hauptmasse der Substanzen wechselnd am oberen oder unteren Pol der Flecke liegt. Aufgrund dieses eigenartigen Substanzverhaltens innerhalb des Flekkens und der Wahrscheinlichkeit eines Irrtums bei der Abschätzung der Intensität und der Lichtstärke des Fleckens, muß eine Mengenbestimmung aus dem Fleck sehr kritisch beurteilt werden.

Trotzdem wurde versucht, eine ungefähre quantitative Schätzung dadurch zu erreichen, daß verschiedene Mengen Adrenalin und Noradrenalin den Extraktionsflüssigkeiten zugesetzt und mit ihnen „homogenisiert" wurden. Anschließend unterwarfen wir sie dem normalen Arbeitsgang.

Durch Vergleichschromatogramme sollten auf diese Weise die nachgewiesenen Adrenalin- und Noradrenalinmengen zumindest größenordnungsmäßig erfaßt werden. Verluste im Extraktionsgang verlieren bei einem solchen Verfahren an Bedeutung.

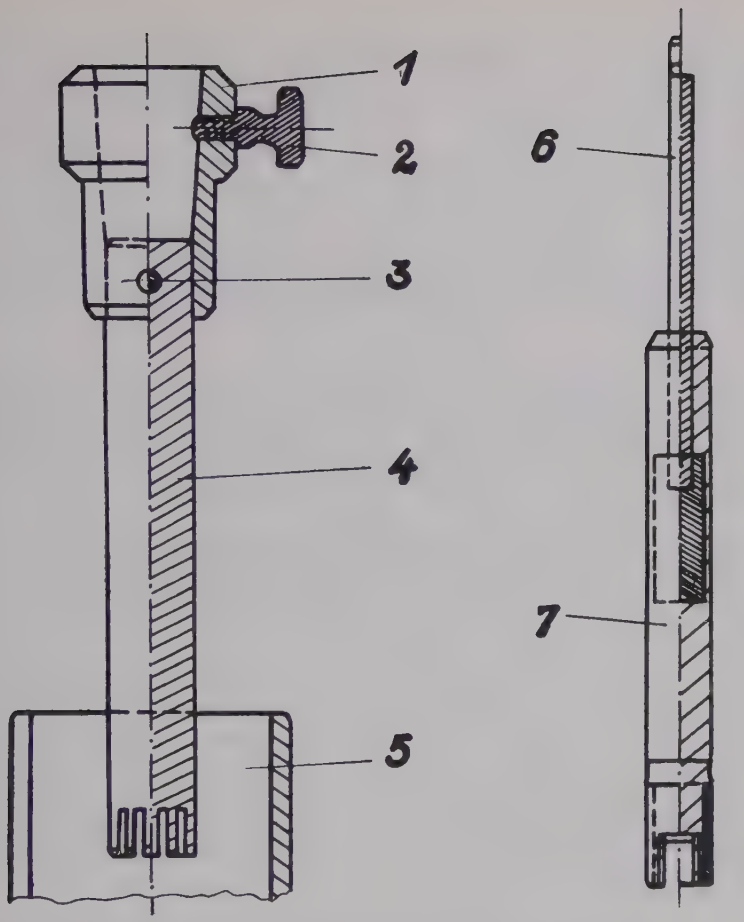
Standardchromatogramme von Reinsubstanzlösungen erwiesen sich als unbrauchbar, weil die Volumina des Standards und der ihrer Konzentration nach unbekannten Lösung gleich sein sollte. Variierende Volumina bergen immer die Gefahr in sich, daß die Flecke trotz gleicher Substanzmengen unterschiedlich ausfallen. Ferner fehlen bei derartigem Vorgehen die vielen Einflüsse des Extraktionsverfahrens, was erhebliche Änderungen im Aussehen der Flecke bewirkt.

E. Die Homogenisierung der Gewebe

SHORE/OLIN (1958) untersuchten mit ihrer Methode Gewebe — Nebenniere, andere Eingeweideorgane und Gehirn —, die sich mit einem Glashomogenisator aufgrund ihrer histologischen Beschaffenheit einfach aufbereiten ließen. Unser Arbeitsmaterial bestand im Gegensatz hierzu aus festem Bindegewebe, Muskeln, Bändern, Sehnen, Gefäßen usw. Solche Strukturen lassen sich mit einem Glashomogenisator nicht aufbereiten, auch nicht, wenn sie vorher durch eine Fleischhackmaschine zerkleinert wurden. Vorversuche ergaben, daß eine so vollständige Zerstörung der Zellen, wie sie mit einem Glashomogenisator möglich ist, auf unsere Fragestellung ohne Einfluß war. Bei der mechanischen Zertrümmerung der Zellen kommen normalerweise getrennte Zellbestandteile miteinander in Berührung. Auf diese Weise hätten u.U. Reaktionen angestoßen werden können, die ein falsches Bild von den wahren Verhältnissen ergeben. Die ubiquitären Redoxasen könnten in vitro das empfindliche Redoxsystem Adrenalin-Adrenochrom katalytisch beschleunigen. Kontrollversuche mit Zusatz von Katecholaminen schlossen diese Möglichkeit aus. Zur Erklärung dieser Erscheinung mag die Annahme dienen, daß viele Aktivatoren von Enzymen durch die Zerstörung der Zellen zwar frei werden, aber in der Suspensionsflüssigkeit so stark verdünnt vorliegen, daß sie als unwirksam gelten müssen.

Die ersten Versuche, das exzidierte Gewebe zu zerkleinern, wurden mit dem Ultra-Turrax der Fa. Janke & Kunkel, Staufen i. Br., durchgeführt. Es wurde ca. 3 Minuten bei 24 000 U/min. homogenisiert.

Sehr bald stellte sich heraus, daß das untersuchte Gewebe in dem Fließmittel n-Butanol — n-HCl = 1:1 eine typische Fluoreszenz aufwies. Für Adrenalin lag sie bei Rf = 0,18, für Noradrenalin bei Rf = 0,13. Mit ihr war in unregelmäßiger Folge eine weitere Fluoreszenz mit ungewöhnlicher Leuchtkraft bei Rf = 0,77 vergesellschaftet. Eine Änderung des Fließmittels hatte keinen Einfluß darauf, daß die letzt-



Selbstgefertigter Homogenisator

Teil	Gegenstand	Material
7	Verkleideter Teil der Welle	Methacrylsäuremethylester
6	Welle, die an das Handstück angeschlossen wird	Stahl
5	Becherglas mit dem zur Homogenisierung vorgesehenen Gewebe	Glas
4	Rohr aus V_2A-Stahl	V_2A-Stahl
3	2 Madenschrauben	Ms 58
2	Konterschraube	Ms 58
1	Anschlußstück für das Handstück	Ms 58

genannten Fluoreszenzen wechselnd stärker, schwächer oder gar nicht auftraten. Leeruntersuchungen von Muskel- und Schleimhautmaterial, — d.h. ohne Injektion von Adrenalin oder Noradrenalin — zeigten keine Fluoreszenzen.

Eine Untersuchung von Adrenalin und Noradrenalin allein, das den Extraktionsflüssigkeiten zugesetzt wurde, um einen evtl. Gewebsfaktor auszuschließen und der „Homogenisierung" sowie dem normalen Extraktionsgang unterworfen wurde, zeigte dagegen wieder diese Fluoreszenzen bei Rf = 0,77 mit wechselnder Intensität. Bei ausreichend anhaltendem „Homogenisieren" gelang es sogar, die gesamte zugesetzte Adrenalin- und Noradrenalinlösung in den Stoff umzuwandeln, der den Rf-Wert 0,77 ergab.

Leider ist es schwierig, den Ultra-Turrax sauberzuhalten. Deshalb wurde versucht, eine durch Verunreinigungen bedingte chemische Abwandlung des Adrenalins und Noradrenalins auszuschließen. Wir fertigten aus V_2A-Stahl einen Homogenisator, der dem Ultra-Turrax im Wirkungsprinzip entsprach, und verkleideten die Welle zum Handstück mit einem Kunststoff aus der Reihe der Methacrylsäure-Methylester.

Mit diesem Instrument wurde bei 3000 U/min. 5 Minuten lang homogenisiert. Obwohl dieser Homogenisator eine ausreichende Schnittleistung mit der Eigenschaft verband, sich nach jedem Arbeitsgang vollständig auseinanderbauen und reinigen zu lassen, traten die vorher erwähnten Fluoreszenzen (Rf = 0,77) weiterhin auf.

Eine neue Versuchsreihe wurde schließlich so angesetzt, daß das nach der Injektion exzidierte Gewebe behutsam mit einem Glashomogenisator zertrümmert wurde. Auf diese Weise gelang es, eng umgrenzte, typische Adrenalinfluoreszenzen auf den Chromatogrammen zu erzielen. Größere Versuchsreihen mit dem Glashomogenisator durchzuführen, scheiterte daran, daß selbst stabile Ausführungen den Belastungen nicht standhielten, denen sie durch die oben beschriebenen Gewebe ausgesetzt waren. Außerdem traten erhebliche Verluste dadurch ein, daß die Gewebe zuvor grob zerkleinert werden mußten.

Als geeignet erwies sich uns der *Homogenisator der Fa. Bühler/Tübingen.* Die Homogenisationsdauer betrug eine Minute bei 50 000 U/min. Dieser Homogenisator arbeitet nach dem Prinzip, daß ein Glasbehälter durch Federkraft an eine Deckplatte gepreßt wird, die mit Gummiringen zur Abdichtung versehen ist. Damit wird ein Luftabschluß nach außen gewährleistet. Mit dem Homogenisationsgut kommt nur die über der Suspensionsflüssigkeit verbleibende Luft in Berührung. Alle eisernen Teile sind vernickelt. Die Messer stehen horizontal und sind mitsamt der Welle aus Stahl hergestellt.

Um den Glasbehälter befindet sich eine Kühlvorrichtung. Somit kann nötigenfalls eine bestimmte Temperatur eingehalten werden.

Sämtliche Versuche mit diesem Homogenisator verliefen befriedigend. Das Gewebsmaterial wurde hervorragend zerkleinert. Die chromatographische Untersuchung zeigte nur die für Adrenalin und Noradrenalin typischen Fluoreszenzen.

Der pH-Wert der zu homogenisierenden Substanzen lag vor und nach dem Homogenisieren bei 4,5, mit Adrenalin- und Noradrenalinlösungen allein bei 3. Wir homogenisierten grundsätzlich die Aufschwemmung 1,2 ml 0,01 n-HCl, 15 ml n-Butanol und das Exzisionspräparat, um ausreichend Suspensionsflüssigkeit zu gewinnen. Das Kochsalz wurde erst vor dem einstündigen Schütteln hinzugesetzt. Methodische Störungen traten durch diese Modifikation des SHORE/OLIN'schen Arbeitsvorschlages nicht auf.

Wie empfindlich Adrenalin in Lösung gegen äußere Einwirkungen ist, veranschaulicht die Beobachtung, daß trotz der kleinen Berührungsfläche wieder in starkem Ausmaß die Substanz mit dem Rf-Wert 0,77 auftrat, wenn die vernickelten Deckplatten durch Deckplatten aus Messing ersetzt wurden.

Normalerweise genügt schon die Zersetzung geringster Mengen von Adrenalin, um große Volumina von Adrenalinlösung zu verfärben. Deshalb können rotgefärbte Adrenalinlösungen noch eine fast vollständige Adrenalinwirkung zeigen. Weil beim Homogenisieren mit den beiden ersten Homogenisatoren eine Rotfärbung nicht auftrat, ist anzunehmen, daß das Adrenalin und Noradrenalin durch das Homogenisieren nur bis zu der Leukoform des Adrenochroms, Adrenolutin, oxydiert wurde. Leider ist Adrenolutin wegen seiner Unbeständigkeit im Handel nicht erhältlich. Es wäre anderenfalls leicht gewesen festzustellen, ob diese Annahme zu Recht besteht.

Mit den beiden zuerst genannten Homogenisatoren arbeiteten wir so, daß wir die Gläser mit dem aufzubereitenden Gewebe in der Hand hielten. Deshalb wird es in innigste Berührung mit der atmosphärischen Luft gebracht. Aus diesem Grunde galt es, die Frage zu klären, ob die Oxydation des Adrenalin und Noradrenalin durch eine Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes, durch Reibungswärme oder durch beide Faktoren bedingt ist. Leider war es technisch nicht zu ermöglichen, die Versuchsanordnung unter Stickstoffatmosphäre zu reproduzieren. Aufgrund der Ergebnisse mit dem Homogenisator von Bühler/Tübingen scheint für die Oxydation der Katecholamine in vitro allein der Wärmeeinfluß verantwortlich zu sein, denn auch hier befand sich ein Luftraum über dem aufzubereitenden Gut, der mindestens dessen doppeltes Volumen hatte.

Tabelle I (Vorversuche)

	Gesamtzahl der Versuche	Nachweis von Suprarenin® bzw. Arterenol® allein	Nachweis von Suprarenin® bzw. Arterenol® und das Oxydationsprodukt, das durch das Homogenisieren entstand (in n-Butanol:n-HCl = 1:1/Rf = 0,77)	Nachweis des Oxydationsproduktes, nachdem alles Suprarenin® in diese Substanz umgewandelt wurde
Mundvorhof	**8** *(3)*	**4** *(3)*	**3**	**1**
Harter Gaumen	**9** *(1)*	**3** *(1)*	**4**	**2**
Mandibularloge	**6** *(1)*	**3** *(1)*	**2**	**1**
Muskelgewebe mit 100 γ injizierten Suprarenin® bzw. Arterenol®	**12** *(1)*	**9** *(1)*	**3** *(1)*	ϕ
100 γ Suprarenin® bzw. Arterenol® den Extraktionsflüssigkeiten zugesetzt und „homogenisiert"	**10** *(2)*	**5** *(1)*	**3** *(1)*	**2**
Muskelgewebe ohne Injektion von Suprarenin® bzw. Arterenol®	**9**	ϕ	ϕ	ϕ
Schleimhaut ohne Injektion von Suprarenin® bzw. Arterenol®	**9**	ϕ	ϕ	ϕ

Ergebnisse

a) Befunde

Die Versuchsanordnung ergab zunächst Aufschluß darüber, daß Suprarenin® und Arterenol® in einigen Geweben über einen erheblichen Zeitraum nachgewiesen werden können. Die *Tabelle I* erläutert die Zahl der Vorversuche an verschiedenen Injektionsorten der Mundhöhle und in der Muskelmasse des Oberschenkels sowie Leerversuche mit Muskel- und Schleimhautgewebe. Pro Injektion wurden 100 Gamma Suprarenin® bzw. Arterenol® appliziert. Diese Versuche wurden sämtlichst ohne Farbstoffzusatz durchgeführt. Damit sollte die Möglichkeit einer Verfälschung der Ergebnisse durch die Versuchsanordnung möglichst gering gehalten werden. Die Zahlen ohne Klammern beziehen sich auf Versuche mit Suprarenin®, die Zahlen in Klammern auf Versuche mit Arterenol®.

Die *Tabelle II* gibt eine Übersicht über die Zeitabstände, in denen die Tiere getötet wurden, und die Injektionsorte mit einer groben Schätzung der im Gewebe nachweisbaren Menge Suprarenin® bzw. Arterenol®. Die Werte für Arterenol® befinden sich wiederum in Klammern. Die wechselnde Zahl von Versuchen erklärt sich dadurch, daß für jeden Zeitabschnitt ein Nachweis mit hoher Exaktheit gewonnen werden sollte, bevor der nächstgrößere Zeitraum untersucht wurde.

Nach Injektion in den *Mundvorhof* im Ober- und Unterkiefer schien sich das Suprarenin® bzw. Arterenol® mit dem Farbstoff gleichmäßig entlang präformierter Gewebsspalten zu verteilen. Nach 60 Minuten waren noch mehr als $^2/_3$ der injizierten Mengen nachzuweisen. Dann erfolgte eine langsame Abnahme der nachweisbaren Suprarenin®- und Arterenol®-Mengen. Die Erfassungsgrenze wurde erst nach vier Stunden Liegedauer im Gewebe erreicht.

Die Verteilung erfolgte zunächst diffus im submukösen Gewebe. Später schienen sich die Flüssigkeiten der Schwerkraft folgend in Nähe der jeweiligen Lippenmitte zu sammeln. Es wurde alles vom Farbstoff imprägnierte Gewebe zusammen mit einer Randzone exzidiert, in der darüberhinaus Suprarenin® oder Arterenol® vermutet werden konnten. Schwierigkeiten bei der Extraktion verursachten die Fälle, bei denen die Katecholamine und der Farbstoff in das Gebiet der Wangendrüsen einbrachen. Die Produkte der Schleimdrüsen bildeten mit dem n-Butanol eine gallertige Masse, aus der sich nur mit Mühe eine ausreichende Menge n-Butanol mit den in ihm gelösten Katecholaminen zur weiteren Aufbereitung gewinnen ließen.

Am *harten Gaumen* war schon nach 30 Minuten die Exzision einer ausreichenden Menge Gewebe schwierig. In ihr ließ sich nur noch ca. $^1/_3$ der injizierten Menge Katecholamine nachweisen. Der Farbstoff war zu diesem Zeitpunkt bereits in den spongiösen Knochen des Mundhöhlendaches eingedrungen und begann darüberhinaus, um den rostralen Rand des Mundhöhlendaches herum, in die Nasenhöhle zu diffundieren. Nach 45 Minuten gelang nur noch der Nachweis von ca. 15 % der injizierten Mengen, und nach 60 Minuten war die Erfassungsgrenze erreicht. Nach 75 Minuten ließ sich kein Suprarenin® bzw. Arterenol® mehr aus der Schleim-

Die Prozentzahlen stellen grobe Schätzwerte dar. Die durch den Extraktionsgang verursachten Verluste sind berücksichtigt

Tabelle II

(Reihenuntersuchungen)

Teil I

ϕ = Erfassungsgrenze

Zeitraum zwischen Injektion und Tötung der Tiere	Nachweis von Suprarenin® bzw. Arterenol® in Prozent der injizierten Mengen. Es wurden pro Injektion 100 γ appliziert.		Zahl der Versuche pro Injektionsort
30 Minuten	Mundvorhof	ca. **80 %** *(75 %)*	**3** *(2)*
	Harter Gaumen	**30 %** *(30 %)*	
	Mandibularloge	**30 %** *(30 %)*	
	Muskel	**80 %** *(75 %)*	
45 Minuten	Mundvorhof	**60—70 %** *(75 %)*	**3** *(2)*
	Harter Gaumen	**15 %** *(15 %)*	
	Mandibularloge	**30 %** *(15 %)*	
	Muskel	**80 %** *(75 %)*	
60 Minuten	Mundvorhof	**60—70 %** *(60 %)*	**3** *(2)*
	Harter Gaumen	**5 %** *(10 %)*	
	Mandibularloge	**10—15 %** *(10 %)*	
	Muskel	**60 %** *(60 %)*	
75 Minuten	Mundvorhof	**65 %**	**3**
	Harter Gaumen	ϕ	
	Mandibularloge	ϕ	
	Muskel	**60 %**	
	(keine Versuche mit Arterenol®)		
90 Minuten	Mundvorhof	**50—60 %** *(50—60 %)*	**2** *(2)*
	Muskel	**45—50 %** *(50 %)*	

120 Minuten	Mundvorhof Muskel	**25—30 %** *(25—30 %)* **25—30 %** *(25—30 %)*	**2** *(2)*
150 Minuten	Mundvorhof Muskel	**25 %** *(25 %)* **25 %** *(15—20 %)*	**2** *(3)*
180 Minuten	Mundvorhof Muskel	**15 %** *(15 %)* **15—20 %** *(15—20 %)*	**2** *(3)*
210 Minuten	Mundvorhof Muskel	**15 %** **15 %**	**2**
240 Minuten	Mundvorhof Muskel	**10 %** *(10 %)* **10 %** *(10 %)*	**3** *(2)*
270 Minuten	Mundvorhof Muskel	Ø *(5 %)* **5 %** *(10 %)*	**3** *(2)*
300 Minuten	Mundvorhof Muskel	Ø *(Ø)* Ø *(5 %)*	**1** *(1)*

haut extrahieren. Das submuköse Gewebe erschien zu diesem Zeitpunkt nur noch ein wenig dunkler als normal, und die Farbstoffdiffusion hatte sich über den ventralen Anteil der Nasenhöhle ausgebreitet. Durch wiederholte Präparationen ließ sich beobachten, daß sich der Farbstoff schließlich über die gesamte Nasenhöhle ausbreitete und nicht nur in der Schleimhaut fast sämtlicher anatomischer Gebilde — wie Maxilloturbinale, Masurpium nasi, Ethmoturbinale und Cartilago Jakobsonii — zu finden war, sondern auch in dem darunter gelegenen spongiösen Knochen. Ob das Suprarenin® oder Arterenol® dem Farbstoff auf diesem Wege voranging, entzog sich dem Nachweis.

Im Bereich der *Mandibularloge* erfolgte die Verteilung gleichfalls sehr schnell. Zwar konnten noch nach 45 Minuten 1/3 der injizierten Mengen nachgewiesen werden, doch wurde auch in diesem Gebiet schon nach 60 Minuten die Erfassungsgrenze erreicht. Nach 30 Minuten hatte das vom Farbstoff infiltrierte Gebiet einen Radius von ca. 1,5 cm. Nach 120 Minuten konnte der Farbstoff zunehmend in den regionären Halslymphknoten beobachtet werden.

In der *Muskelmasse des Oberschenkels* war das Auffinden der injizierten Lösungen nicht leicht. Sie wanderten der Schwerkraft folgend entlang den bindegewebigen Hilfsapparaten wie Sehnen, Sehnenscheiden, Faszien, — entlang anderen präformierten Wegen wie Blutgefäßen und Nerven —, oft über lange Strecken. Die Wanderungsstrecke betrug oft über 5 cm und der Farbstoff schien als Depot zu wandern und sich in den ersten Stunden nicht diffus zu verteilen. Noch nach vier Tagen war eine starke Imprägnation großer Muskelmassen durch Farbstoff zu erkennen. Das Suprarenin® ließ sich bis zu 4½ Stunden nachweisen, das Arterenol® sogar bis zu 5 Stunden. Die Abnahme ihrer Konzentrationen erfolgte wiederum kontinuierlich und schneller als die Farbstoffverteilung. Nach 1½ Stunden war wie im Mundvorhof noch ca. die Hälfte der injizierten Menge im Gewebsextrakt nachweisbar. Einen Unterschied in der Fluoreszenz nach Extraktion aus „roten" oder „weißen" Muskeln wurde nicht festgestellt.

Zusammenfassend darf vermutet werden, daß der unterschiedlich lange Nachweis von Suprarenin® und Arterenol® in großem Umfange durch die anatomische Struktur und die physikalischen wie chemischen Milieuverhältnisse bestimmt wurde. Eine Demethylierung des Suprarenins® zu Arterenol® am Orte der Injektion kann mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Abbauprodukte, wie sie aus der Harnchromatographie bekannt sind, ließen sich gleichfalls nicht nachweisen.

b) Besprechung

In der Einleitung wurde ausgeführt, daß das Schicksal von Adrenalin und verwandter Amine im Organismus viele ungelöste Fragen aufwirft. Der vorliegende Beitrag sollte deshalb einen Versuch darstellen, das Schicksal von parenteral in den Körper eingeführten wohl definierten Mengen — pro Einzelinjektion 100 Gamma — an den Stellen zu prüfen, mit denen der Zahnarzt täglich zu tun hat.

Die in der Zahnheilkunde übliche submuköse Verabreichung bezweckt bei der Lokalanalgesie eine kapillarverengende Wirkung am Injektionsort. Dadurch soll eine Depotwirkung für die mit dem Adrenalin injizierten Medikamente erzielt werden, die einer ausreichenden Wirkung am Erfolgsorgan entspricht und diese durch eine einzige Injektion für den Zeitraum des Eingriffes erhält. Mit der Verzögerung der Resorption von Adrenalin und der mit ihm injizierten Medikamente wird darüberhinaus die Allgemeinwirkung auf den Organismus durch den vergrößerten Verteilungszeitraum abgeschwächt.

Beim Menschen sind nach kleinsten Adrenalindosen, wie sie in der Lokalanalgesie üblich sind, Nebenwirkungen bekannt. Sie werden durch überschießende Kompensationsmechanismen ausgelöst. Es gehören hierzu Herzklopfen, Beklemmungsgefühl, Angstschweiß, Blässe, Tremor und Bewußtlosigkeit (Kollaps). In jedem größeren Kollektiv an Patienten werden sich immer einige finden, die aufgrund konstitutioneller Eigenheiten besonders empfindlich reagieren. Deshalb sind diese Nebenwirkungen nicht besorgniserregend und nur als zwangsläufige Folge der individuellen Variation anzusehen.

Am wachen Ganztier sind Kreislaufwirkungen und andere unerwünschte toxische Erscheinungen nur schwer analysierbar, weil sie durch zentrale und reflektorische Regulationsvorgänge leicht ausgeglichen werden können. Trotzdem erscheint es erwähnenswert, daß bei unserem Versuchskollektiv von ca. 60 Tieren und Applikation von 600 Gamma Adrenalin oder Noradrenalin pro Tier nur bei unbeabsichtigter intravasaler Injektion eine ausgesprochen pharmakotoxische Wirkung beobachtet werden konnte. Herzreaktionen, Dyspnoe und Krämpfe fielen sehr schnell wieder ab, und spätestens nach 2 Minuten zeigten die Tiere wieder ein normales Verhalten. Nach submuköser und intramuskulärer Injektion erweckten die Tiere einen völlig normalen Eindruck und schienen diese hohen Dosen einwandfrei zu vertragen.

Zur Injektion wurde l-Suprarenin®-Hydrochlorid und d-Arterenol®-Hydrochlorid in schwach saurer Lösung benutzt, die mit Pontamine Sky Blue 6 BX versetzt wurde, um ihre Verteilung in den Geweben annäherungsweise verfolgen zu können. Wegen der am jeweiligen Injektionsort beschränkt aufnahmefähigen Fläche wurden die Lösungen im Verhältnis 1:1000 bereitet. Dabei war zu berücksichtigen, daß aus konzentrierten Lösungen mit kleinem Volumen die Wirkstoffe u.U. oft schneller resorbiert werden als aus großen Mengen verdünnter Lösungen und daß die Resorption um so schneller erfolgt, je größer die Oberfläche und das Diffusionsgefälle zur Gewebsflüssigkeit hin sind. Lösungsschwierigkeiten gab es für die Salze dieser Katecholamine in schwach sauren Lösungsmitteln nicht. Diese Tatsache ist deshalb erwähnenswert, weil echt gelöste Substanzen am schnellsten vom Körper aufgenommen werden, kolloidale langsamer, schwer lösliche und unlösliche müssen meist durch chemische Reaktionen in lösliche überführt werden. Somit erspart die Zufuhr in gelöster Form dem Organismus zusätzliche Arbeit, sie erleichtert die Dosierung und läßt die zu untersuchenden Stoffe zunächst unverändert. Schon geringe Abwandlungen des Moleküls würden die Annahme nicht

mehr berechtigt sein lassen, daß Medikamente den Stoffen analog resorbiert, verteilt und eliminiert werden, die im Organismus normalerweise vorkommen und diesen in der chemischen Konstitution und den physikalischen Eigenschaften ähneln.

Nach der Aufnahme in den Blutstrom verteilen sich die Medikamente im Organismus. Entsprechend ihrer Löslichkeit und Affinität werden sie den Organen zugeführt, in denen ihr weiterer Umbau bzw. Abbau stattfindet. Dieser Weg ließe sich mit Radioisotopen verfolgen, die auch Aufschluß über die Verteilungsgeschwindigkeit geben könnten, die ihrerseits von der Blutumlaufzeit abhängig ist.

Nach Einbringen eines Medikamentes in das unter der Körperoberfläche gelegene Gewebe, d.h. nach extravasaler Injektion in Binde- oder Muskelgewebe, setzt der Resorptionsvorgang ein. Als beendet kann er erst angesehen werden, wenn das Medikament in freier oder gebundener Form, bzw. seine Abbauprodukte im Blut erscheinen. Die Geschwindigkeit der Resorption hängt von den speziellen Stoffeigenschaften des Medikaments, der Art des Applikationsortes sowie vom Zustand des Organismus vor und während der Applikation ab. Deshalb sind die Injektionstechnik und der Ort der Injektion insofern wesentlich, als sie die Größe der Oberfläche bestimmen, die mit dem resorbierenden Gewebe in Kontakt steht. Aus einer kugelförmigen Quaddel z.B. kann die Resorption nicht so schnell erfolgen, wie es bei großflächiger Verteilung der Injektionsflüssigkeit in lockerem Subkutangewebe mit wandernder Nadel möglich ist.

Bereits SCHRÖDER (1958) weist aufgrund seiner Untersuchungen erhebliche Toxizitätsunterschiede von Lokalanalgetika in Geweben unterschiedlicher anatomischer Struktur nach. In dem lockeren Bindegewebe des Mundvorhofes waren sowohl die Intoxikationsschwellendosis als auch die Dauer der Reaktion erheblich verlängert gegenüber den Werten nach Injektion in den harten Gaumen. Die am harten Gaumen gewonnenen Ergebnisse waren der Applikation in die Ohrvene von Kaninchen vergleichbar. SCHRÖDER (1958) fordert deshalb eine systematische Testung in sämtlichen Bereichen der Mundhöhle mit unterschiedlichem anatomischen Aufbau zur Abrundung pharmakologischer Wirkungsanalysen. Insbesondere weist er auf den großen Gefäßreichtum der Weichteildecke des harten Gaumens und auf den Druck hin, dem ein Flüssigkeitsdepot unterliegt, das zwischen einer knöchernen Unterlage und der ihr straff anliegenden Gewebsschicht liegt. Im Gegensatz hierzu sind die anatomischen Verhältnisse im Mundvorhof so beschaffen, daß sich ein Flüssigkeitsdepot allseits verteilen kann, ohne auf groben Widerstand zu stoßen. Eine entsprechend langsamere Resorption wird hierdurch erklärlich.

SCHRÖDER's Überlegungen sind auch für unsere Ergebnisse von Bedeutung. Der Nachweis der Katecholamine Suprarenin® und Arterenol® gelang am harten Gaumen und in der Mandibularloge bis zu 60 Minuten, während im Mundvorhof und Muskel diese Stoffe noch nach 270 bzw. 300 Minuten zu finden waren.

Der Resorption folgt die Elimination, die Umwandlung in unwirksame Stoffe, die Speicherung oder die Ausscheidung von Medikamenten. Die Umwandlung in un-

wirksame oder anders wirksame Stoffe ist überall im Körper möglich, im Blut, dem Gewebe und in Organen wie Leber und Niere. Der völlige Abbau kann über die Desaminierung und Dekarboxylierung führen. Bei der vollständigen Oxydation eines Amins würden Ammoniak, Wasserstoffsuperoxyd und der entsprechende Aldehyd gebildet.

$$R\text{-}\ CH_2\ NH_2 + H_2O = R\text{-}\ CHO + NH_3 + H_2O_2$$

Durch Bindung an andere größere Moleküle kann ebenfalls ein wirkungsloses Produkt resultieren. In dieser Hinsicht wird eine Azokupplung an Eiweißkörper im Adrenalin- und Noradrenalinstoffwechsel diskutiert (SOEHRING, 1951).

Eine weitere Möglichkeit bestünde darin, daß die Medikamente in unlösliche und damit indifferente Verbindungen überführt und irgendwo im Körper deponiert werden.

Wie die Resorption bei unseren Versuchen verlief, war nicht festzustellen. Es scheint, daß sich Suprarenin® und Arterenol® schneller als der Farbstoff verteilten. Für die Verteilung und die Fähigkeit, lebendes Gewebe zu durchdringen, ist nicht die Löslichkeit allein, sondern auch die Teilchengröße von Bedeutung. Die Durchdringung von Membranen und Zellverbänden kann durch das Zellinnere — entlang bzw. in der Zelloberfläche — erfolgen. Andererseits steht auch der interzelluläre Raum zur Ausbreitung zur Verfügung, der uns für die Verteilung der Katecholamine als wesentlich erschien. In diesem Raum werden Kapillarkräfte wirksam. Auch unlösliche Teilchen gehen diesen Weg. Der Eigenart der interzellulären Kittsubstanz und dem Durchmesser der wandungslosen Gewebsspalten und Saftlücken ist bei der Verteilung eine große Rolle zuzusprechen. Große Moleküle werden langsamer resorbiert als kleine. Die Resorption von Salzen wird von einer Vielfalt von physiko-chemischen Faktoren mitbestimmt. Auch eine quellende und entquellende Wirkung von Ionen auf hydrophile Kolloide (Kittsubstanzen) mag dabei eine Rolle spielen. Von erheblicher Bedeutung werden auch rein mechanische Faktoren sein wie Druck, Kapillaraktivität und das Diffusionsgefälle, das seinerseits von der Durchblutungsgröße des Gewebes beeinflußt wird.

Werden die Stoffe aus dem Säftestrom physikalisch reversibel an der Zelloberfläche gebunden, liegt eine Adsorption vor. Viele Medikamente werden zunächst von der Zellmembran adsorptiv gebunden und gelangen später in die intrazelluläre Flüssigkeit. Dieser Vorgang wird als Absorption gekennzeichnet.

Zu den Grenzflächen des Organismus, die Arzneimittel adsorptiv binden können, gehören die Oberflächen von Zellmembranen, der Bindegewebsstrukturen, Kolloide, Makromoleküle und die Oberflächen der Blutkörperchen. Eine Absorption der Katecholamine darf verneint werden, eine Adsorption an Blutkörperchen und der Abtransport in die Organe, wo der eigentliche Abbau stattfindet, ist wahrscheinlicher. Die hochmolekularen Farbstoffe werden über den Lymphweg eingeschleust, weil die Lymphkapillaren eine größere Weite erreichen als die Blutgefäße.

Eine Fortführung der vorliegenden Untersuchungen könnte darin bestehen, zu versuchen, einen Nachweis darüber zu führen, ob die von ARMSTRONG und Mc MILLAN (1957) wie auch von AXELROD (1957) im Organismus nachgewiesene Umwandlung von Adrenalin und seiner physiologischer Homologen in die 3,4 - Dihydroxymandelsäure und weiterhin in die 3 - Methoxy - 4 - hydroxymandelsäure auch lokal möglich ist.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird zunächst eine Methode dargestellt, die den Nachweis von Suprarenin® und Arterenol® gestattet, nachdem diese Medikamente an den in der zahnärztlichen Praxis üblichen Orten injiziert wurden. Als Versuchstiere wurden Kaninchen gewählt.

Aus den Geweben wurden Suprarenin® und Arterenol® in verschiedenen Zeitabständen extrahiert und der jeweilige Nachweis bis zur Erfassungsgrenze durchgeführt. Ein Umbau oder Abbau der injizierten Substanzen konnte nicht nachgewiesen werden. Methoxykatecholamine lassen sich mit der vorliegenden Methode nicht erfassen.

Literaturverzeichnis

(Abkürzungen nach „World Medical Periodicals" 1957))

ARMSTRONG, M. D. Mc MILLAN, A. — Identification of a major urinary metabolite of norepinephrine. Fed. Proc. **16**, 146 (1957)

AXELROD, J. — O-methylation of epinephrine and other catechols in vitro and vivo. Science **126**, 400, (1957)

AXELROD, J. ALBERS, W. CLEMENTE, C. D. — Distribution of catechol-O-methyltransferase in the nervous system and other tissues. J. Neurochem. **5**, 68, (1959)

AXELROD, J. WEIL-MALHERBE, H. TOMCHICK, R. — The physiological dispositicn of ^{3}H-epinephrine and its metabolite metanephrine. J. Pharmacol. exp. Th. **127**, 251, 1959).

BACQ, Z. M. — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du systeme nerveux autonome. XXV. Role du foie et des visceres abdominaux dans la destruction de l'adrenaline. Arch. int. physiol. **45**, 1, (1937)

BATELLI, M. F. — Transformation de l'adrenaline dans l'organisme. Soc. Biol. **54**, 1518 (1902)

BENSLEY, B. A. — Bensley's practical anatomy of the rabbit. 8. ed. Fully rev. and ed. by E. H. Craigy. Blakiston, Philadelphia (1948)

BERG, A. — Beiträge zur Katecholaminbestimmung im Rahmen der Phäochromozytomdiagnose. Dissertation, Hamburg (1960)

BLASCHKO, H. RICHTER, D. SCHLOSSMANN, H. — Adrenaline oxidase. J. Physiol. (Lond.) **89**, 6, (1937)

BLASCHKO, H. RICHTER, D. SCHLOSSMANN, H. — Enzymic oxidation of amines. J. Physiol. (Lond.) **91**, 13, (1937)

CRAWFORD, T. B. B. OUTSCHOORN, A. S. — The quantitative separation of adrenalin and noradrenalin in biological fluids and tissue extracts. Brit. J. Pharmacol. **6**, 8, (1951)

EULER, U. S. v. — Nordrenalin. Charles C. Thomas Publisher Springfield. Illinois, USA. (1956)

EULER, U. S. v. ORWEN, J. — Preparation of extracts of urine and organs for estimation of free and conjugated noradrenalin and adrenalin. Acta physiol. scand. **33**, 118, (1955)

EULER, U. S. v. SCHMITERLÖW. C. G. — Sympathicomimetic activity in extracts of normal human and bovine blood. Acta physiol. scand. **13**, 1, (1947)

GERHARDT, U. — Das Kaninchen. Dr. Werner Klinghardt, Leipzig (1909)

GOLDENBERG, M. SERLIN, J. EDVARDS, T. RAPPORT, M. M. — Chemical screening methods for the diagnosis of pheochromocytoma. I. Norepinephrine in human urine. Amer. J. Med. **16**, 310,(1954)

HAIS, I. M. MACEK, K. — Handbuch der Papierchromatographie I., Grundlagen und Technik. VEB G. Fischer Verlag, Jena (1958)

KRAUSE, R. — Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere, I. Säugetiere. Walter De Gruyter und Co. Berlin und Leipzig (1921)

LA BROSSE, E. H. AXELROD, J. KETY, S. S. — O-methylation, the principal route of metabolism of epinephrine in man. Science **128**, 593, (1958)

LUND, A. — Simultaneous fluorimetric determination of adrenalin and noradrenalin in blood. Acta pharmacol. (Kbh.) **6**, 137, (1950)

LUND, A. — Elimination of adrenalin and noradrenalin in blood from the organism. Acta pharmacol. (Kbh.) **7**, 297, (1951)

MARKOWITZ, J. MANN, F. C. — The role of the liver and the other abdominal viscera in the destruction of epinephrine in the body. Amer. J. Physiol. **89**, 176, (1929)

NATELSON, S. LUGOVOY, J. K. PINCUS, J. B. — A new fluorimetric method for determination of epinephrine. Arch. Biochem. **23**, 157, (1949)

PAK, C. Versuche über den Übertritt chemischer Substanzen aus der Gefäßbahn in die Gewebe. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **111**, 42, (1926)

PEKKARINEN, A. Studies on the chemical determination, occurence, and metabolism of adrenalin in the animal organism. Acta physiol. scand. **16**, 54, (1948)

SCHRÖDER, F. Die Abhängigkeit der Toxizität der Lokalanalgetika vom Ort der Applikation. In „Fortschritte der Kiefer- und Gesichts-Chirurgie", Band V, S. 127. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1959)

SHAEPDRYVER, A. F. de Distribution and urinary of radioactive adrenalin. Arch. int. Pharmacodyn. **120**, 491, (1959)

SHAYER, R. W. The metabolism of adrenalin containing isotopic carbon. J. biol. Chem. **192**, 875, (1951)

SHORE, P. A.
OLIN, J. S. Identification and chemical assay of norepinephrine in brain and other tissues. J. Pharmacol. exp. Ther. **122**, 295, (1958)

SOEHRING, K. Pharmakologie für Zahnärzte. Verlag „Zahnärztliche Welt". Konstanz (1951)

UDENFRIEND, S. Survey of chemical and physical methods for measuring catecholamines. Pharmacol. Rev. **11**, 252, (1959)

WAJZER, J. Oxydation de l'adrenaline. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **28**, 341, (1946)

WEIL-MALHERBE, H.
BONE, A. D. The chemical estimation of adrenalinlike substances in blood. Biochem. J. **51**, 311, (1952)

WILLIAMS, R. T. Detoxication Mechanisms. John Wiley & Sons, New York (1959)

Herrn Prof. Dr. med. G. MALORNY danke ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut.

Herrn Prof. Dr. med. K. SOEHRING verdanke ich die Überlassung des Themas und große Hilfe durch seine wertvollen Anregungen und Ratschläge.

Ferner sage ich Frau Dr. med. M. FRAHM einen herzlichen Dank für ihre tatkräftige Unterstützung und viele klärende Besprechungen.

Den Farbwerken Hoechst AG, Frankfurt/M., danke ich für die Bereitstellung ihrer Präparate Suprarenin® und Arterenol® in den Modifikationen d-, l- u. racemisch.

Lebenslauf

Am 26. März 1935 wurde ich in Celle als Sohn des Zahnarztes Dr. Wilhelm Fischer aus Wittingen und seiner Ehefrau Gertraud, geb. Westermann, geboren.

Nach vierjährigem Besuch der Grundschule in Wittingen erhielt ich meine weitere Vorbildung an der dortigen Mittelschule, dem städtischen Realgymnasium in Uelzen, der Staatlichen Oberschule in Soltau und der Oberschule für Jungen und Mädchen in Hankensbüttel, an der ich am 6. März 1956 vor einem Staatlichen Prüfungsausschuß meine Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Sommersemester 1956 in Marburg/Lahn, im Wintersemester 1959/60 und im Sommersemester 1960 studierte ich in Freiburg/Breisgau.

Seit dem Wintersemester 1960/61 studierte ich an der Universität Hamburg, an der ich am 30. Mai 1962 die zahnärztliche Prüfung ablegte. Seit dem 1. Juli 1962 bin ich in der Prothetischen Abteilung der Universitäts-Klinik und- Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten in Hamburg tätig.